Ueber einige Reaktionen

zum

Nachweis des Albumins im Harn.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

vorgelegt der

medicinischen Fakultät der kgl. Universität Erlangen

von

Constantin Zouchlos
aus Leonidion (Arkadien).

Erlangen 1888.
Druck der Universitäts-Buchdruckerei von E. Th. Jacob.

Ueber einige Reaktionen

zum

Nachweis des Albumins im Harn.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

vorgelegt der

medicinischen Fakultät der kgl. Universität Erlangen

von

Constantin Zouchlos
aus Leonidion (Arkadien).

Erlangen 1888.
Druck der Universitäts-Buchdruckerei von E. Th. Jacob.

Gedruckt mit Genehmigung der medicinischen Fakultät.
Referent: Herr Professor Dr. Penzoldt.

Τῷ Σεβαστῷ καὶ Ἀγαπητῷ

μοι Θείῳ Κυρίῳ

ΝΙΚΟΛΑΩ Μ. ΤΣΟΥΧΛΩ

Το Πονημα τοδε τεκμήριων ἀγάπης καὶ ὑπολήψεως

Ανατιθημι

ὁ Συγγραφας.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546420_0173

Ueber einige Reaktionen zum Nachweis des Albumins im Harn.

Die folgenden Untersuchungen sind auf Veranlassung und mit Unterstützung des Herrn Prof. Fleischer im chemischen Laboratorium der medicinischen Klinik ausgeführt.

Die chemische und mikroscopische Untersuchung des menschlichen Harns ist schon seit geraumer Zeit ein wichtiges diagnostisches Hilfsmittel geworden, da sie nicht nur zur Erkennung interessanter Anomalien des Stoffwechsels dient, sondern auch Aufschluss gibt über verschiedene wichtige krankhafte Affektionen der einzelnen Organe. Seitdem vor ungefähr 50 Jahren Richard Bright darauf hingewiesen hat, dass der Nachweis des Albumins im Harn für die Diagnose der Nierenkrankheiten von dem grössten Werth ist, haben auch praktische Aerzte der Untersuchung des Harns ihre Aufmerksamkeit zugewendet. Man erkannte aber bald, dass mit der chemischen Untersuchung die mikroscopische Hand in Hand gehen müsse, besonders wenn es sich darum handelt, die Differential-Diagnose zwischen den Erkrankungen der Nieren und anderen Affektionen zu stellen. Denn die Entdeckung der Albuminurie ist noch kein sicherer Beweis, dass die Nieren erkrankt sind, da Ei-

weiss im Harn auch auftreten kann bei vollständig gesunden Nieren (fieberhafte Albuminurie) Beimengung von Eiweiss zum Harn von den harnleitenden Organen (Albuminuria spuria).

Immerhin ist die schnell auszuführende chemische Untersuchung auf Eiweiss werthvoll, da bei einem häufig erhaltenen negativen Resultat der Harnuntersuchung auf Eiweiss eine Erkrankung der Nieren ausgeschlossen werden kann. Eine häufig wiederholte Untersuchung auf Eiweiss ist desshalb wünschenswerth, weil bei verschiedenen Nierenaffektionen (Schrumpfniere, Amyloid) zeitweilig das Eiweiss aus dem Harn verschwindet.

Entsprechend der Wichtigkeit der Sache hat man sich bemüht, Reaktionen aufzufinden, welche es ermöglichen, auch geringere Mengen Albumins sicher und schnell zu bestimmen.

So finden sich in der Litteratur sehr viele Reaktionen, welche zum qualitativen Nachweis des Eiweisses angegeben sind. Von denselben wollen wir hier nur die allerwichtigsten hervorheben, da dieselben schon in der Monographie des Herrn Prof. Penzoldt „ältere und neuere Harnproben und ihr diagnostischer Werth“ eingehende Berücksichtigung gefunden haben.

I. Der filtrirte, klare Harn wird gekocht nach Zusatz von einigen Tropfen Salpetersäure. Eine bleibende Trübung deutet auf Eiweiss hin. Ist der Urin selbst durch wiederholtes Filtriren nicht klar zu erhalten, so schüttelt man ihn mit etwas Magnesia usta und filtrirt dann. Es gelingt auf diese Weise meist, ihn zu klären.

Die vorgenannte Reaktion ist ziemlich scharf; nach den sorgfältigen Untersuchungen von Hoffmeister weist dieselbe noch $^1/_{20000}$ Eiweiss gelöst nach. Sie

dürfte also für klinische Zwecke vollkommen genügen.

II. Man bringe in ein Spitzglas starke, nicht rauchende Salpetersäure und überschichte dieselbe mittelst einer Pipette mit dem zu untersuchenden Harn. Ist Eiweiss zugegen, so erhält man an der Berührungsfläche einen weissen Ring.

Die Probe ist nicht ganz eindeutig. Ist der Harn reich an harnsauren Salzen, so kann saures, harnsaures Natron sich ausscheiden. Erwärmt man aber im Reagensglas, so löst sich eine nur durch Urate bedingte Trübung wieder auf, während die durch Eiweisse verursachte durch Erhitzen stärker wird. Eine weitere Fehlerquelle kann durch die Anwesenheit harnartiger Körper im Harn veranlasst werden (nach dem Genuss von Copaivbalsam oder Cubeben), da auch diese durch Salpetersäure gefällt werden. Die Trübung verschwindet aber bei Zusatz von Alcohol, während der Eiweissniederschlag zunimmt.

III. Der filtrirte Harn wird in der Kälte mit Ferrocyankalium und Essigsäure versetzt — ein Ueberschuss beider Reagentien schadet nichts —; alsdann erhält man bei Gegenwart von Eiweiss eine Trübung, beziehungsweise einen dicken Niederschlag. Diese Probe ist, wie ausser von Anderen, zuletzt noch von Herrn Prof. Penzoldt festgestellt worden ist, ausserordentlich scharf und zuverlässig.

Es lassen sich nämlich mit derselben geringe Spuren von Albumin auffinden. Sie hat den Vortheil, dass durch dieselbe alle Eiweisskörper, die bisher im Harn gefunden wurden — Haemialbumose oder Propepton, Globulin, Serumalbumin — gefällt werden. Ist der Urin sehr con-

centrirt, mit hohem spezifischen Gewicht, so empfiehlt es sich, ihn zu verdünnen, da bei starkem Salzgehalt Propepton nicht mitgefällt wird.

Will man feststellen, ob nur Serumalbumin oder ob auch Propepton vorhanden ist, so versetzt man den Harn nach Zusatz von Essigsäure bis zu deutlich saurer Reaktion mit dem gleichen Volum einer gesättigten Lösung von Kochsalz (NaCl) Glaubersalz ($MgSO_4$). Entsteht schon in der Kälte ein Niederschlag, der sich beim Erwärmen löst, so ist nur Propepton vorhanden. Bildet sich in der Kälte gar keine oder nur eine geringe Trübung, welche beim Erwärmen zunimmt, so ist Serumalbumin im Harn vorhanden.

Ausser diesen Proben ist noch der Zusatz von Trichloressigsäure und Metaphosphorsäure zum Harn in der Kälte empfohlen worden, um Eiweiss nachzuweisen. Es ist schon von anderer Seite mitgetheilt, dass diese Proben desswegen nicht rühmenswerth sind, weil auch normaler Harn, der nach genauer Prüfung sicher kein Eiweiss enthielt, durch jene beiden Reagentien getrübt wird.

Gleiche Einwürfe sind gegen das sonst so bequeme Verfahren erhoben worden, Papierstreifen mit Ferrocyankalium und Citronensäure, oder Quecksilberpräparaten und der gleichen Säure zu tränken und getrocknet in den zu untersuchenden Harn zu hängen. Einen nicht kleinen Uebelstand hat jene Methode, dass vom Papier sich Fäserchen loslösen und so Eiweiss vortäuschen. Schliesslich sind auch noch Phosphorwolframsäure und Jodquecksilberkalium als Eiweissreagentien in der Kälte wirkend vorgeschlagen worden. Sie sind aber für den Harn nicht brauchbar, da sie Urate, Kreatinin, Sarkin,

Alkaloide, also Stoffe, die bekanntlich im normalen Urin vorhanden sein können, ausfällen und somit eine entstehende Trübung nicht immer auf Eiweiss bezogen werden kann.

Die sogenannten Farbenreaktionen, Versetzen des Harns mit Eisessig und Schwefelsäure (Roth- bis Violettfärbung, Adamkiewicz), Zusatz von Kalilauge und Kupfersulphat (Biuretreaction) Millon'sches Reagens (salpetersaures und salpetrigsaures Quecksilberoxyd in wässriger Lösung — rother Niederschlag) Goldchlorid und Ameisensäure (Blaurothe Färbung) sind entweder zu wenig empfindlich oder weisen nicht allein auf Eiweiss hin, weil sie auch mit anderen Körpern, die im Harn auftreten können, Färbungen geben (Millon'sches Reagens und Phenol).

Von den genannten Reaktionen ist diejenige mit Ferrocyankalium in der Kälte die sicherste und schärfste, da sie noch $^1/_{50000}$ Albumins gewiss entdeckt, also Spuren, die nicht mehr wägbar sind. Sie ist schnell ausführbar. Immerhin ist es für den vielbeschäftigten Praktiker nicht ganz bequem, bei seinen Besuchen auf dem Lande, bei welchen öfters Harnuntersuchungen nothwendig werden, zwei Reagentien mit sich zu führen und so haben, um dem Arzte eine möglichst einfache und schnell auszuführende Methode an die Hand zu geben, einzelne Autoren vorgeschlagen, bestimmte Säuren und Metallsalze, welche in der Kälte Eiweiss fällen, in einem empirisch festgestellten Verhältniss zu mischen, Gelatine-Kapseln damit zu füllen und diese in den klaren Urin hineinzuwerfen. Da die Kapseln sich im Wasser lösen, so wird der Inhalt bei Gegenwart von Eiweiss eine Trübung, beziehungsweise einen Niederschlag hervorrufen. Diese

Methode hat den grossen Vorzug, dass man einer Spiritus-Lampe nicht bedarf.

Auf Anregung von Fürbringer sind solche Kapseln von Apotheker Stütz in Jena in den Handel gebracht worden, welche eiweissfällende Quecksilberpräparate und eine organische Säure enthalten.

Nach Versuchen, welche im Laboratorium der mediz. Klinik in Erlangen auf Veranlassung des Herrn Professor Dr. Penzoldt angestellt worden sind, gibt auch normaler Harn, welcher, mit Ferrocyankalium und Essigsäure geprüft, keine Reaktion gab, mit dem von Fürbringer vorgeschlagenen Reagens eine Trübung, welche aber, wie sich später herausstellte, nicht auf Eiweiss zu beziehen ist.

Ich habe nun in dem genannten Laboratorium diese Versuche mit anderen Salzen und Säuren fortgesetzt, um ein geeignetes Eiweiss-Reagens zu erhalten, und bin dabei zu folgenden Resultaten gekommen.

Zuerst wurden Ferrocyankalium und Essigsäure bei mässiger Temperatur zusammen auf dem Wasserbade abgedampft; man erhält hierdurch ein Pulver, welches Wasser anzieht und desshalb nicht verwendbar ist. Ferner wurde Ferrocyankalium und Essigsäure zusammengemischt und diese Lösung zu Eiweissbestimmungen verwendet, damit man nicht beide Reagentien getrennt mitzunehmen braucht. Auch dieses Verfahren erscheint nicht zweckmässig, da die Mischung bei längerem Stehen grün und opalescirend wird, so dass geringe Mengen Eiweiss im Harn vorgetäuscht werden.

Da wir nun wissen, dass auch Sublimat in Verbindung mit Säuren ein Eiweiss fällendes Mittel ist, so wurden damit Versuche angestellt.

I. Eiweiss-Reaktion mit Sublimat-Essigsäure.

Setzt man von einer 1 %igen Sublimatlösung einige Tropfen zu eiweisshaltigen Harn, so entsteht eine deutliche Trübung, während normaler Harn entweder keine oder in seltenen Fällen eine sehr schwache, kaum erkennbare Trübung zeigt. Setzt man nun zu einem Harn, welcher nach Zusatz von Sublimat sich trübt, einige Tropfen Essigsäure hinzu, so verschwindet die Trübung, wenn sie nicht auf Eiweiss beruht; ist dagegen Eiweiss im Harn vorhanden, so bleibt die Trübung auch nach Hinzufügen von Essigsäure bestehen.

Eine Mischung von einem Theil Essigsäure mit 6 Theilen einer 1 %igen Sublimatlösung gibt nur Trübung mit eiweisshaltigem Urin, welche gleich nach dem Zusatz auftritt, und gibt keinen Niederschlag mehr, während Sublimat allein einen starken Niederschlag hervorruft.

Pepton gibt mit Sublimat und Essigsäure von dem genannten Mischungsverhältniss keine Trübung, ebensowenig Harnsäure, Harnstofflösung phosphorsaure Salze und Zucker.

Auch wenn der Harn stark concentrirt ist, so trübt er sich bei Zusatz von Sublimat und Essigsäure nicht.

II. Probe mit Ferrocyankalium und Bernsteinsäure.

Man nimmt einen Theil von festem, gepulvertem Ferrocyankalium auf 3 Theile Bernsteinsäure, mischt sie sorgfältig und setzt von dem Pulver eine kleine Messerspitze voll zu dem zu untersuchenden Urin. Enthält letzterer auch nur mässige Mengen Eiweiss, so tritt eine sehr deutliche Trübung auf; wird dieselbe dagegen nicht

beobachtet, so ist der Harn als normal zu betrachten. Ebensowenig tritt bei concentrirtem Harn, welcher durch Filtriren völlig geklärt ist, sogleich nach dem Hinzufügen des Pulvers eine Trübung ein; erst nach einigen Minuten macht eine solche sich in mässigem Grade bemerkbar.

Man kann mit diesem Pulver Gelatine-Kapseln füllen, wie dies bei anderen Eiweissproben schon früher angegeben wurde, und ist so in der Lage, ohne grosse Mühe in der Praxis Harnuntersuchungen auf Eiweiss schnell und mit sicherem Erfolge vorzunehmen.

Ausserdem sei noch hervorgehoben, dass diese Reaktion schärfer ist, als die bisher in Anwendung gebrachte mit Ferrocyankalium und Essigsäure, da mit ihr selbst noch minimale Spuren von Eiweiss entdeckt werden können.

III. Probe mit Rhodankalium und Essigsäure in der Kälte.

Zur Ausführung dieser Probe werden am besten 100 ccm einer 10%igen Rhodankaliumlösung mit 20 ccm Essigsäure vermischt und einige Tropfen dieser Mischung zu dem zu prüfenden Harn hinzugefügt. Ist Eiweiss in geringen Mengen zugegen, so entsteht sofort nach dem Zusatz eine deutliche Trübung, bei stärkerem Eiweissgehalt ein dicker, weisser Niederschlag.

Ein Ueberschuss der zuzusetzenden Flüssigkeit schadet nichts.

Alle normalen Urine d. h. solche, welche mit Ferrocyankalium und Essigsäure keine Trübung ergaben, zeigten auch bei Zusatz der genannten Mischung ein negatives Resultat.

Durch successive Verdünnung eines eiweisshaltigen Urins wurde festgestellt, dass die letztbeschriebene Probe etwas schärfer ist, als diejenige mit Ferrocyankalium und Essigsäure.

Sie hat nämlich vor dieser den Vorzug, dass sie wasserklar ist, so dass minimale Trübungen, welche im Harn entstehen, weniger leicht übersehen werden, als wenn zum gefärbten Harn auch noch gelbe Ferrocyankaliumlösung hinzugefügt wird. Auch bei längerem Stehen bleibt das von uns angewandte Reagens klar. Dampft man Rhodankalium und Essigsäure zusammen ab, so erhält man ein Pulver, welches Wasser anzieht und die Reaktion nicht mehr gibt. Dieselbe lässt sich also nur nach der angegebenen Methode ausführen.

In gleicher Weise, wie das Rhodankalium in Verbindung mit Essigsäure zum Nachweis von Albumin im Harn verwendet werden kann, ist dies mit Rhodankalium und Bernsteinsäure der Fall.

Setzt man zum Harn Rhodankalium und eine kleine Menge Bernsteinsäure, so erhält man bei Gegenwart von Eiweiss eine deutliche Trübung, während normaler Urin, wie wir uns durch eine grosse Reihe von Prüfungen von concentrirten, diluirten Harnen, welche von Patienten mit den verschiedenartigsten Krankheiten herrührten (es wurden sowohl Tag- als Nachturine untersucht) ganz klar bleibt.

Diese Probe hat den Vorzug, dass die dazu nöthigen Reagentien vom Arzt bequem mitgeführt werden können, da die Bernsteinsäure ebenso wie das Rhodankalium feste Körper sind.

Nimmt man gleiche Theile Bernsteinsäure und Rhodankalium, mischt sie und setzt davon eine kleine Menge

zum Harn, so erhält man bei Gegenwart auch von nur geringen Mengen Albumins eine Trübung; normaler Harn gibt ein negatives Resultat. Auch in dieser Hinsicht wurden viele Urine von Gesunden wie Kranken ärztlicher Prüfung unterzogen. Bringt man das gepulverte Gemisch in Gelatine-Kapseln und verwahrt dieselben in einem gut schliessenden Gefäss, so kann man damit jeder Zeit die Reaktion anstellen; bleiben aber die gefüllten Kapseln offen liegen, so ziehen sie Wasser an. Auch diese Probe ist ausserordentlich scharf und zuverlässig, da sie minimale Spuren Eiweiss im Harn anzeigt.

Ziehen wir aus den angeführten Versuchen einen Schluss, so ergibt sich, dass die Probe mit Rhodankalium und Bernsteinsäure, welche Substanzen man am besten getrennt in kleinen Schächtelchen mit sich führt und nach einander dem filtrirten Harn zusetzt, ein scharfes zuverlässiges Eiweissreagens darstellt, welches noch genauer als Ferrocyankalium und Essigsäure die geringsten Spuren von Eiweiss im Harn anzeigt. Auch die anderen geprüften Reaktionen sind besonders für das Sprechzimmer des Arztes zu empfehlen, da dieselben sich bequem und schnell ausführen lassen.

Quantitative Bestimmung des Albumins im menschlichen Harn.

Folgende Bestimmungen wurden auf Anregung des Herrn Professor Dr. Strümpell gemacht.

Die quantitative Bestimmung des Albumins im Harn kann in praktischer und theoretischer Hinsicht von Werth sein, da bei bestimmten Nierenkrankheiten aus der Zunahme oder Abnahme des Albumins Schlüsse gezogen werden können auf eine Verminderung oder Verschlimmerung des Nierenleidens. Ferner kann es von Wichtigkeit sein, aus den Resultaten einer quantitativen Eiweissbestimmung zu ersehen, ob ein mehr oder minder eiweissreicher Harn bestimmte Arzneimittel, körperliche Bewegung oder Ruhe, Anregung der Diurese einen Einfluss auf die Albuminurie haben oder nicht. Bezüglich der Prüfung einzelner Arzneimittel liegen bereits verdienstreiche Beobachtungen von Herrn Professor Dr. Penzoldt vor. (Wirkung des Kali und Natronaceticum). Die quantitative Bestimmung des Eiweisses im Harn war früher einigen mit Schwierigkeiten bestimmt verknüpft. Von der gesammten Tagesmenge wurde je nach der Quantität ein aliquoter Theil (am besten 100 ccm) abgemessen und in einer Porzellanschale nach Zusatz von einigen

Tropfen Essigsäure bis zu deutlicher Reaktion auf dem Wasserbade so lange gekocht, bis das Eiweiss in Flocken sich ausgeschieden hatte. Der Urin wurde dann durch ein kleines bei 100° getrocknetes und gewogenes Filterchen filtrirt und der Filterrückstand mit essigsäurehaltigem Wasser öfters ausgewaschen, um die Salze zu entfernen. Das Filterchen wird mit dem Rückstand wieder bei 100° getrocknet und dann gewogen. Das erhaltene Gewicht, von dem das Gewicht des Filters abzuziehen ist, entspricht dann der Menge Albumin in 100 ccm, und es lässt sich die Gesammtquantität mit dem in 24 Stunden ausgeschiedenen Albumin leicht berechnen. Kennt man die Asche des Filters, so kann man noch die Menge der an das Eiweiss ziemlich festgebundenen Salze (Phosphate) bestimmen. Man bringt Filter mit Rückstand in einen vorher gewogenen Platintiegel, verascht dann und wägt wieder. Zieht man das Gewicht des Filters und das der Filterasche von dem erhaltenen Gewichte ab, so kennt man die Menge der Salze im Eiweiss.

Diese von Scherer angegebene Methode lässt sich von dem Praktiker schwer ausführen und es sind deswegen seit längerer Zeit einfachere Methoden angegeben worden, um wenigstens annähernd die Menge des Eiweisses im Harn zu bestimmen. Man bringt in eine Eprouvette stets die gleiche Menge Harns und kocht nach Zusatz von Salpetersäure und lässt dann stehen. Das ausgefällte Eiweiss setzt sich nach einiger Zeit zu Boden und je nach der Höhe, die der Bodensatz zeigt, schätzt man die Menge des Eiweisses. Dass dieses Verfahren unzuverlässige Resultate gibt, liegt auf der Hand, da der Urin bald weniger, bald stärker sauer ist

und das Eiweiss nach dem Kochen mit Salpetersäure sich nicht immer gut absetzt.

Eine bessere Methode ist die von Esbach angegebene, da die Eprouvette (Albuminometer) genau calibrirt ist und der Harn mit einem eiweissfällenden Reagens (von Pikrin- und Citronensäure) in der Kälte versetzt wird und der Niederschlag nicht geschätzt wird, sondern seine Höhe an den Theilstrichen genau abgelesen werden kann.

Die Methode wird in folgender Weise ausgeführt.

Zur Fällung des Albumins wird eine mit Citronensäure gemischte, pikrinsaure Lösung (10 gr Pikrinsäure und 20 gr Citronensäure werden auf 1 Liter Wasser gelöst) benutzt. Harn und Reagens werden bis zu bestimmten Marken eingefüllt (Harn bis U, dann Reagens bis R) nach Verschluss des Cylinders mit einem Kautschukpfropfen vorsichtig, um das Entstehen von Luftblasen zu vermeiden, gemischt. Die Mischung lässt man 24 Stunden ruhig stehen und liest nach dieser Zeit die Höhe des Niederschlags an der Skala ab. Die Theile der letzteren entsprechen ebenso vielen Grammen pro Liter.

Ich habe nun bei einer grösseren Anzahl von Urinen nach diesem Verfahren quantitative Bestimmungen gemacht, indem ich die Resultate mit den nach Scherers Methode gewonnenen verglich und bin dabei zu folgenden Ergebnissen gekommen.

Bei einer kleinen Anzahl von Harnen (besonders, wenn nur geringe Mengen Albumin's in ihm enthalten sind) setzt sich selbst nach mehreren Tagen der Niederschlag nicht ab, so dass man zu keinem positiven Resultate gelangt. Bei einer Anzahl anderer Urine stim-

men die gewonnenen Bohlen annähernd mit den durch Wägung erzielten überein; doch muss man ganz genau nach der Vorschrift Esbachs verfahren und nicht den Urin nach dem Zusatz der Eiweissreagens länger stehen lassen, als er angibt. Lässt man länger stehen, als er angibt, so setzt sich der Niederschlag fester zusammen, und man erhält abweichende Resultate. Die Gewinnung annähernd richtiger Resultate ist um so erstaunlicher, da das Absetzen eines Sediments doch von manchen zufälligen Einflüssen (Temperatur, Salzgehalt, Menge des Eiweisses, Reaktion etc.) abhängt. Da aber unsere Ergebnisse mit den von anderen Forschern (Guttmann und Andere) erhaltenen übereinstimmen, so können wir das Verfahren, welches leicht auszuführen ist, doch den Praktikern empfehlen, wenn sie sich über die Zunahme oder Abnahme des Albumins im Harn bestimmter Kranker Aufschluss verschaffen wollen. Für die klinischen Institute bleibt die Schererische Methode, weil sie zuverlässigere Resultate gibt, die empfehlenswerthere.

Zum Schluss sei es mir gestattet, meinem hochverehrten Lehrer Herrn Professor Dr. Fleischer für die die gütige Anregung zu dieser Arbeit, sowie für die liebenswürdige Unterstützung, die er mir bei derselben zu Theil werden liess, meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen.